

Die Entwicklung des Quarz- und Aerosilgranuloms

(Vergleichende qualitative und quantitative Untersuchungen)

Klaus Werkle

1961



Digitized by the Internet Archive
in 2026

Aus dem
Pathologischen Institut der Universität München
- Direktor: Prof. Dr.med. W. Büngeler -
=====

Die Entwicklung des Quarz- und Aerosilgranuloms
(Vergleichende qualitative und
quantitative Untersuchungen)

Inaugural-Dissertation

zur

Erlangung der Doktorwürde in der gesamten Medizin
verfaßt und einer Hohen Medizinischen Fakultät
der Ludwig-Maximilians-Universität zu München

vorgelegt von

Klaus Werkle

aus Mülheim/Ruhr

München 1961



Referent : Privatdozent Dr.med. H.J.Löblich

Korreferent: Professor Dr.med. W. Büngeler

Dekan : Professor Dr.phil.nat.Dr.med. H.Eyer

Tag der mündlichen Prüfung: 11.Juli 1961

Inhaltsverzeichnis

- I. Einleitung
- II. Eigene Untersuchungen
 - a) Beobachtungsgut und Methodik
 - b) Versuchsergebnisse
 - 1) Qualitativ-histologische Untersuchungen
 - 2) Quantitative Untersuchungen
- III. Literaturübersicht
- IV. Besprechung
 - a) Die qualitativen und quantitativen Unterschiede in der Entwicklung des Quarz- und Aerosilgranuloms
 - b) Zur Pathogenese des Quarz- und Aerosilgranuloms
 - c) Der Wert der Granulomtaschentechnik als biologischer Test
- V. Schlußbetrachtungen
- VI. Zusammenfassung
- VII. Literaturverzeichnis

I. Einleitung

In der experimentellen Staublungenforschung hat die Prüfung von Fremdstäuben auf ihre fibroplastische Wirkung wesentliche Bedeutung. Für die Testuntersuchungen wurden zahlreiche Versuchsanordnungen benutzt, unter denen der Peritonealtest (Miller und Sayers, Rüttner) die größte praktische Bedeutung erlangt hat. Die qualitativ-histologische Auswertung der verschiedenen Versuchsergebnisse führte zu teilweise stark voneinander abweichenden Ergebnissen (Giese, Siegmund, Klosterkötter, Rüttner und andere). Daher wurde der Versuch unternommen, mit quantitativen bzw. halbquantitativen Verfahren (Belt und King, Jäger und Müller, Grandjean, Turrian und Nicod) weitere Aufschlüsse über die fibrosierende Wirkung verschiedener Fremdstäube zu erlangen. Diese Methoden, einschließlich der chemischen Kollagenbestimmung (quantitatives Verfahren zum Hydroxyprolinnachweis), sind hauptsächlich zur Untersuchung der Spätstadien experimenteller Staublungen-erkrankungen angewandt worden. Sie geben jedoch keine Aufschlüsse über die quantitativen Verhältnisse der Nekrose-Zell-Faserrelation während der frühen Entwicklungsstadien des Granulomwachstums.

Wir haben daher versucht, durch die Anwendung quantitativ-morphologischer Methoden weitere Aufschlüsse über die Granulomentwicklung nach Applikation von verschiedenen Fremdstäuben zu erlangen. In Fortsetzung früherer Untersuchungen (Löblich) über die Entwicklung des Staubgranuloms wurden die lokalen Gewebsreaktionen des Quarz- und Aerosilgranuloms im Frühstadium der Entwicklung miteinander verglichen. Es ist das Ziel unserer Untersuchungen, anhand der qualitativen und quantitativen morphologischen Veränderungen der Granulomformen einen weiteren Beitrag zur Frage nach der Wirkung kristalliner und amorpher Kieselsäure zu leisten.

II. Eigene Untersuchungen

a) Beobachtungsgut und Methodik

Wie in früheren Arbeiten über die Granulomentwicklung

(Löblich) haben wir mit der Granulomtaschentechnik (Selye) gearbeitet. Diese Methode ist unseres Wissens noch nicht als biologischer Test angewandt worden. Wir haben zu unseren Untersuchungen weiße Ratten (Spray-Dawley Stamm) benutzt und in zwei parallelen Versuchsreihen die lokalen Gewebsreaktionen nach Applikation von Quarz und amorpher Kieselsäure geprüft.

Versuchsreihe I: Bei 48 Ratten Injektion von 20 ccm Luft unter die rasierte Haut der rechten Rückenhälfte, anschließend Injektion von 5 ccm einer sterilen 1%igen Quarzaufschwemmung in die Lufttasche. Verschluss der Injektionsstelle mit Mastix. Die Korngröße des Quarzes wurde nach fraktionierter Sedimentierung des Quarzmehls (Döhrentruper Quarzmehl Nr. 12) elektronenoptisch bestimmt. Die Korngröße des von uns verwandten Staubes lag zwischen 0,5 und 3 μ .

Versuchsreihe II: Unter gleichen Bedingungen bei 40 Ratten Injektion von 5 ccm einer 1%igen Aerosilsuspension (Degussa) in die Lufttasche. Teilchengröße unter 200 Å.

Nach 1, 2, 3, 4, 5, 7, 14, 21, 28, 56 und 84 Tagen wurden die Granulome in Äthernarkose herauspräpariert und gewogen. Einbettung der Granulome in Paraffin und Aufarbeitung in Stufenschnitten. Färbemethoden: van Gieson, H.E. und Silberimprägnation (Gömöri).

Zur quantitativen Bestimmung der Relation der Nekrosen, Zellen und Fasern wurden in jedem Entwicklungsstadium von je 20 histologischen Präparaten Zeichnungen mit dem Zeichenmikroskop nach Eninger angefertigt und Nekrosen, Zellen und Fasern in der Zeichnung markiert. Nach Gewichtsbestimmung der einzelnen Zeichnungen wurden Nekrosen-, Zell- und Faserbezirke ausgeschnitten, getrennt gewogen und aus je 20 Untersuchungen die Mittelwerte ($\bar{x}$) und die Standardabweichung ($S\bar{x}$) ermittelt (Tabelle 7). Außerdem wurden die in den einzelnen Stadien der Entwicklung des Quarz- und Aerosilgranuloms ermittelten Werte zueinander in Beziehung gesetzt und Korrelationstabellen angefertigt (Tabelle 4-6). Die Berechnung des Korrelationskoeffizienten erfolgte nach der Formel

$$r = \frac{\sum (x_1 - \bar{x}) (y_1 - \bar{y})}{\sqrt{\sum (x_1 - \bar{x})^2 \sum (y_1 - \bar{y})^2}}$$

Die Mittelwerte der Prozente für Quarz wurden mit $\bar{x}_1$ und für Aerosil mit $\bar{y}_1$ bezeichnet. Die Regressionsgeraden ergaben sich nach ¹ der Formel

$$y = \frac{\sum x_1 \cdot y_1}{\sum x_1^2} \cdot x \quad \text{bzw.} \quad x = \frac{\sum x_1 \cdot y_1}{\sum y_1^2} \cdot y.$$

b) Versuchsergebnisse

1) Qualitativ-histologische Untersuchungen der Quarzgranulome:

Nach 48 Stunden in der Granulomtasche fibrinöses Exsudat, dicht mit polymorphkernigen Leukozyten und wenigen Lymphozyten durchsetzt; zahlreiche Makrophagen mit phagozytierten Quarzteilchen. In der Peripherie ein dichter Wall von Exsudatzellen und Fibrin; Sprossung von Fibroblasten und Auftreten sehr zarter argyrophiler Fasern. Am 2. und 3. Tag nekrotischer Zerfall der Exsudatzellen im Zentrum. Im weiteren Verlauf Abkapselung der Exsudatzellansammlung durch feinen Fibrinsaum. Vermehrung der versilberbaren Fasern und Eindringen in das Zentrum des Granuloms. Am 5. Tag Abnahme der Exsudatzellen. In der Umgebung des zellfreien nekrotischen Zentrums zahlreiche Zelltrümmer; Lage der Quarzteilchen teilweise extrazellulär. In der Peripherie starke Wucherung von retikulohistiozytären Zellen, Fibroblasten und Kapillaren. Beginnende Organisation des nekrotischen Zentrums durch feines Flechtwerk argyrophiler Fasern (Abb. 1). Nach einer Woche im Zentrum des Granuloms noch fibrinoide Massen mit Zelldetritus und einzelnen Lymphozyten und Plasmazellen. In der Mittelzone Auftreten von Fibroblasten, zarten kollagenen Fasern und Kapillarsprossen. Außen ein breiter Granulationswall aus Fibroblasten und zarten retikulären Fasern und breiten kollagenen Faserzügen mit mäßig viel Lymphozyten und Leukozyten, zahlreichen Kapillaren, Arteriolen und kleinen

Venen. In der inneren Schicht des Granulationssaumes besonders dicht palisadenförmig angeordnete Fibroblasten, in der äußeren Überwiegen wandstarke Kapillaren und kleiner Arterien; in Gefäßumgebung dichte Fibroblastwucherung. Am 14. Tag Granulomzentrum von zahlreichen Fibroblasten, Fibrozyten und Kapillaren durchsetzt, dazwischen locker verteilt Lymphozyten, Leukozyten und Plasmazellen. Starke Abnahme des Granulationssaums zugunsten der Faserbildung. Starke Kapillarsprossung in den Gewebemaschen; perivaskulär zahlreiche Lymphozyten und Plasmazellen, nur vereinzelt Leukozyten. Beginnende konzentrische Anordnung der Fasern in der Peripherie. Nach 21 Tagen sehr zellreiches Granulom mit wirbelförmig angeordneten Fibroblasten, Fibrozyten und Fasern. Dichte Kapillarisation der zentralen Abschnitte mit Auftreten von einzelnen Makrophagen. Zwischen- und Außenzone nicht mehr deutlich unterscheidbar, zusammengesetzt aus einem breiten Kranz von Fasern, Kapillaren, Fibrozyten und Makrophagen; dazwischen unterschiedlich dichte Ansammlung von Lymphozyten und Plasmazellen. Deutliche konzentrische Faseranordnung in der Peripherie. Schrumpfung und Kernknospe zahlreicher Fibrozyten. Nach vier Wochen im Zentrum des Granuloms einzelne Fibroblasten, locker angeordnete Trümmer von Fibrozyten und einzelne mehrkernige Riesenzellen; dazwischen ein lockeres Flechtwerk kollagener Fasern. Schmale Peripherie aus radiär gestellten Fibrozyten, lockeren kernarmen Fasern und mitteldichten Rundzellinfiltraten; geringe Vaskulation, die zum Zentrum hin abnimmt. Außen ein breiter Kranz kollagener Fasern mit zahlreichen Gefäßen, perivaskulären Rundzellinfiltraten und reichlich staubgefüllten Makrophagen. Bereits nach zwei Monaten typisches silikotisches Knötchen mit konzentrischer Schichtung und Hyalinisierung kollagener Fasern im Zentrum. In den Außenbezirken zellreiches Granulationsgewebe, darin vereinzelt Nekrosen und starke Fibroblastenwucherung mit exzentrischer Wachstumsrichtung. Nach drei Monaten weitere Zunahme der Faserbildung, in den Knötchenzentren konzentrische Anordnung der Kollagenfasern und Fehlen von Retikulinfasern; deutliche Hyalinisierung. Außen Wachstumszone mit exzentrischer Ausbreitung in

die Umgebung (Abb. 2).

1) Qualitativ-histologische Untersuchungen der Aerosilgranulome:

Vom 1. - 3. Tag in der Granulomtasche homogenes von Leukozyten dicht durchsetztes Exsudat, wenig Zelltrümmer, im Zentrum vereinzelt Makrophagen. Am 4. Tag Kammerung des nekrotischen Zentrums durch netzartig organisiertes Fibrin. In der Peripherie Wucherung von Fibroblasten, Kapillaren und argyrophilen Fasern (Abb. 3). Am 5. Tag Fibroblasten- und Kapillärwucherung vom Rande des Granuloms aus beginnende zelluläre Organisation des Zentrums. Dichtes Netzwerk versilberbarer Fasern auch im Zentrum. Nach einer Woche von fibrinoiden Massen und Zelldetritus erfülltes nekrotisches Zentrum, durchzogen von wenigen kollagenen oder praekollagenen Fasern. Nachweis vereinzelter Fibroblasten, keine Vaskularisation. Zwischenzone nicht zu erkennen. Direkter Übergang in breiten Granulationssaum mit wenigen kollagenen Fasern, wenig Gefäßen, aber sehr dichter Rundzellinfiltration; in Gefäßnähe wenige Fibroblasten. Überall Trümmer von Exsudatzellen, besonders Leukozyten und Lymphozyten. Nach vierzehn Tagen Vermehrung der kollagenen Fasern und der Vaskularisation; Auftreten vieler Fibrozyten. Im Granulationssaum Abnahme des Zellgehaltes zugunsten einer stärkeren Faserentwicklung. Starke Vaskularisation und dichter Gürtel konzentrisch angeordneter kollagener Fasern in der Außenzone, gleichzeitig Zunahme von Lymphozyten und Plasmazellen; lockerer Fibroblastensaum. Nach drei Wochen sehr zellreiches Granulom mit einzelnen fibrinoiden Nekrosen, Zelltrümmern, Exsudatzellen, Fibroblasten und Makrophagen im Zentrum; zarte Faserbildung mit geringer Kapillarisation. In der Mittelschicht dicht angeordnete radiär gestellte Fibroblasten und Kapillarsprossen; dazwischen lockere Rundzellinfiltrate. In den peripheren Granulombezirken ein lockerer Mantel aus konzentrisch geschichteten kollagenen Fasern, Fibrozyten und Gefäßen; zahlreiche geschrumpfte Fibrozyten. Nach vier Wochen im Granulomzentrum viele Kerntrümmer und wenig Kapillaren, Makrophagen und Fibroblasten mit vereinzelt Kernteilungsfiguren;

peripher wenige Fibrozyten, Lymphozyten, Plasmazellen und Kapillaren. Gleichmäßige lockere Faserdurchflechtung des gesamten Granuloms. Im Zentrum gelegentlich dichter Fasergehalt als in der Peripherie. Nach zwei Monaten fibroblastenreiche Granulome, regelmäßig durchsetzt von zarten retikulären und kollagenen Fasern (Abb. 4). Nach drei Monaten keine wesentliche Änderung des Befundes.

2) Quantitative Untersuchungen (Ergebnis der Gewichtsbestimmung):

Während der einzelnen Entwicklungsphasen der Quarz- und Aerosilgranulome haben sich starke Abweichungen der Gesamtgewichte innerhalb der Versuchsreihen ergeben (Tabelle 8). Wir haben deshalb auf die statistische Auswertung der Gesamtgewichte der Granulome verzichtet und uns auf den Vergleich der Gewichtswerte des Quarzgranuloms mit denen des Aerosilgranuloms innerhalb der ersten drei Monate ihrer Entwicklung beschränkt. Aus diesen orientierenden Messungen ist zu ersehen, ohne Anspruch auf statistische Genauigkeit erheben zu wollen, daß das Gewicht des Aerosilgranuloms im ersten Monat deutlich über dem des Quarzgranuloms liegt. Nach Beendigung der dreimonatigen Versuchsdauer hat das Granulomgewicht in beiden Versuchsreihen deutlich abgenommen. Dem entspricht die schon makroskopisch nachweisbare Schrumpfung der Granulome.

Ergebnis der histologisch-quantitativen Untersuchungen:

Aus den graphischen Darstellungen (Tabelle 1-3) geht hervor, daß 24 Stunden nach Versuchsbeginn das Quarzgranulom zu 93,4 % aus Zellen und zu 6,6 % aus ungeformter Substanz besteht. Diese das Zentrum der Granulome einnehmenden Bezirke bestehen aus einem zellfreien Exsudat, Fibrinfäden und den Bestandteilen nekrotischer Zellen. Die nekrotischen Anteile vergrößern sich auf Kosten des Zelluntergangs bis zum 3. Versuchstag auf 52,9 %. Im Aerosilgranulom liegen in den ersten beiden Tagen die Anteile der Nekrosen mit 24 % und 50,4 % deutlich über den Werten des Quarzgranuloms. Die Abnahme der nekrotischen Bezirke erfolgt in den beiden Versuchsreihen ab 4. Tag etwa gleichmäßig. Nach einer Woche hat der Zellgehalt wieder deut-

lich zugenommen und entspricht etwa den Werten des 1. Tages. Am 5. Versuchstag ist bereits eine quantitativ meßbare Faserbildung vorhanden, die von etwa 6 % im Quarzgranulom nach einem Monat auf 55 % und im Aerosilgranulom auf 46,2 % ansteigt. Während der folgenden zwei Monate erfolgt eine nur geringe Verschiebung der Zell-Faserrelation zugunsten der Fasern. Dabei liegen die Faserwerte des Quarzgranuloms nur wenig über denen des Aerosilgranuloms. Mit diesen Ergebnissen stimmen die Korrelationswerte überein. Aus den Korrelationstafeln (Tabelle 4-6) ist zu entnehmen, daß zueinander in Beziehung gesetzte entsprechende Werte der einzelnen Entwicklungsstadien des Quarz- und Aerosilgranuloms gleichsinnige Beziehungen zeigen. Bis auf deutliche Abweichungen der Nekrosewerte lassen auch die miteinander verglichenen Werte der Zell- und Faserverteilung in beiden Granulomen eine quantitativ etwa gleichgerichtete Entwicklung erkennen.

III. L i t e r a t u r ü b e r s i c h t

Die fibrosierende Wirkung des Quarzes und seiner Modifikationen ist seit der Einführung des Peritonealtests durch Miller und Sayers in zahlreichen experimentellen Untersuchungen geprüft worden. Beim Studium der Histogenese des Quarzgranuloms beschränkte man sich zunächst auf Beobachtungen chronischer Stadien (Miller und Sayers, Miller, Sayers und Yant, Pollicard, und Tuchmann-Duplessis, Rüttner u. a.). Dabei zeigte sich, daß das Quarzgranulom im Verlauf seiner Entwicklung bis zum hyalinen silikotischen Knötchen unabhängig vom Ort der Applikation eine charakteristische Struktur zeigte (Sayers, Schiller und Rüttner).

Inzwischen wurde eine große Zahl verschiedener Staubformen auf ihre silikogene Wirkung getestet. Van Marwyk fand bei Versuchen am Rattenperitoneum mit Bolus alba, Cips und Aluminiumphosphat morphologische Befunde mit großer Ähnlichkeit zu typischen Silikoseknötchen. Ebenso stellten Kikuth und Schlipköter und Rothes bei intratrachealer Aerosilinjektion und Rüttner für Asbesth, Karborund und Graphit und Rüttner und Willy für Aerosil

und reines und steariertes Aluminium Knötchenbildung und silikoseähnliche Strukturen fest.

Carren beobachtete 1952 bei Mäusen 18 Stunden nach Injektion von Quarz am Omentum und Peritoneum eine Zusammenballung des Staubes. Es trat außerdem ein visköses Exsudat mit Leukozyten und später Monozyten auf. Gitterfasern waren nach drei und kollagene Strukturen nach etwa zehn Tagen nachweisbar. Bei ähnlichen Versuchen von Magarey und Gough waren am 17. Tag die Quarzdepots von Faserkapseln eingehüllt. Die Knötchen bestanden hauptsächlich aus Fibroblasten und Bindegewebsfasern. Nordmann, Löblich und Koch fanden bei Versuchen am Kaninchenmesenterium bereits wenige Stunden nach Applikation die Quarzteilchen von Fibrin eingeschlossen oder phagozytiert. Die Zusammensetzung der jungen Mesenterialgranulome richtete sich nach der Menge und Körnchengröße des injizierten Staubes. Bei großen Staubdepots mit einer Körnchengröße über 3 μ wurden zahlreiche Fremdkörperriesenzellen gebildet, während bei kleinen Korngrößen die Phagozytose durch Makrophagen überwog. Eine von der Peripherie her fortschreitende fibröse Organisation des Granuloms wurde schon nach wenigen Tagen beobachtet. Weitere Versuche an der lebenden Kaninchenlunge führten zu entsprechenden Ergebnissen.

Nach den Ergebnissen neuer elektronenmikroskopischer Untersuchungen unterscheiden Policard, Collet und Pregerman drei Entwicklungsstadien des jungen Granuloms. Nach der akuten fibrinös exsudativen Phase mit Oedem und Leukozytenemigration und Untergang der quarzenthaltenden Phagozyten wandern am zweiten Tag histiozytäre Zellen ein und die exsudative wird durch die proliferative Phase der Entzündung abgelöst (zelluläres Stadium der Granulomentwicklung nach Policard). Anschließend kommt es zur Organisation der Nekrosen durch eine neue Phagozytengeneration, die deutlich weniger geschädigt wird. Darauf wiesen schon Klosterkötter und Themann bei Untersuchungen mit Quarz und kürzlich Löblich mit Kieselgur hin. Das Stadium III (fibröses Granulom) beginnt mit der Entwicklung eines deutlichen Knötchens und dem Auftreten von Fibrillen. Nach Versuchen mit einem Quarz-Kohlegemisch sind auch Takacsy, Bordas und Timar der Ansicht, daß die Entwicklung des silikotischen Granuloms in verschiedenen Stufen verläuft. Die er-

ste ist durch Oedem, Phagozytose und Nekrosen gekennzeichnet, die zweite durch die Bildung des knötchenförmigen Granuloms. Mit der Kollagenisierung beginnt die dritte Phase der Entwicklung. Während der produktiven Entzündungsphase setzt die Kapillarisation des Staubzellknötchens ein. Es bekommt Anschluß an das ortsständige Gefäßnetz. Gleichzeitig kommt es zu einer starken Faser Vermehrung. Die konzentrische Faserbildung soll nach Untersuchungen von Rüttner im Zentrum beginnen und gegen die Peripherie fortschreiten. Entsprechende morphologische Beobachtungen hat di Biasi bei den Frühformen der Silikose des Menschen schon früher mitgeteilt. Nach diesen Untersuchungsergebnissen nehmen die Phagozyten im Verlauf der Knötchenbildung zugunsten der Faser Vermehrung ab. Schließlich bleibt nur ein schmaler Staubzellsaum erhalten, den di Biasi als Wachstumszone bezeichnet hat.

Ebenso wie über die kristalline Kieselsäure wurde in zahlreichen experimentellen Arbeiten über die Gewebsreaktion nach Applikation verschiedener amorpher Kieselsäureformen berichtet. Die Ergebnisse dieser Untersuchungen weichen teilweise erheblich voneinander ab. Kolloidale amorphe Kieselsäure entfaltet in höherer Konzentration eine deutliche toxische Wirkung. Darüber besteht heute allgemeine Übereinstimmung (Gye und Purdy, Gardner, King, Dernehl und Mitarb., Gärtner, Schiller, Klosterkötter, Klosterkötter und Jötten, Rüttner, Willy und Baumann). Intravenöse Injektion amorpher Kieselsäure bedingt eine akute Intoxikation mit Tod der Versuchstiere, lokale Applikation ausgedehnte Nekrosen. Neben einer unmittelbar gewebsschädigenden Wirkung wurden auch noch bronchokonstriktorische (Filley und Mitarb.) und Gefäßwirkungen (Antweiler, Klosterkötter) nachgewiesen, die auf eine Irritation des vegetativen Nervensystems zurückgeführt wurden. Diese Wirkungen der amorphen Kieselsäure sind nach Untersuchungen von Antweiler, Klosterkötter und Lühning vom Polymerisationsgrad abhängig. Lühning und Schwarz und Baronetzky zeigten bei Versuchen mit Quarzwasser, daß alle in Lösung gehende Kieselsäure sich auf eine Grenzkonzentration von 100 gamma/ml Monokieselsäure einstellt und weiter in Lösung gehende Kieselsäure zur Polysäure polymerisiert.

Nach umfangreichen Versuchen mit den verschiedenen amorphen Kieselsäureformen ist ihre fibroplastische Wirkung noch immer sehr umstritten. Siegmund und Koppenhöfer gelang es, nach intravenöser Injektion von Siliquid eine experimentelle Fibrose der Leber zu erzeugen. Die fibrosierende Wirkung amorpher Kieselsäure wurde dagegen von Giese nach dem Ergebnis seiner Experimente mit Opal bestritten. Nach weiteren Versuchen kam er zu dem Ergebnis, daß die höhere Löslichkeit der amorphen Kieselsäureformen mit einer Zunahme der Toxizität und die geringere Löslichkeit des Quarzes mit einer verstärkten fibrosierenden Wirkung verbunden ist. Charbonnier fand beim Vergleich dreier röntgenamorpher Kieselsäurepräparate ebenfalls, daß für eine fibroplastische Wirkung eine langsame Lösungsgeschwindigkeit Bedingung ist. In langdauernden Inhalationsversuchen mit Aerosil konnten Jötten und Gärtner nur Granulome erzeugen, die auf einem zellulär proliferativen Stadium verharrten (Aerosilgranulomatose), sich aber später zurückbildeten. Gärtner räumt daher der echten Silikose als fortschreitende noduläre Fibrose eine Sonderstellung ein. Er ist der Ansicht, daß die Weiterentwicklung bis zum fibrösen Knötchen nach Applikation amorpher Kieselsäure wegen der fehlenden Kristallstruktur nicht erfolgt. In Fortsetzung dieser Arbeiten zeigte Klosterkötter, daß die Gewebswirkung verschiedener amorpher Kieselsäureformen sehr unterschiedlich und im Vergleich zur kristallinen Kieselsäure wesentlich geringer ist. Nach seinen Untersuchungen könnte man nur von einer silikogenen Wirkung amorpher Kieselsäure sprechen, wenn man die zellschädigende und proliferative Wirkung und die geringe fibröse Organisation des Granuloms schon als silikotische Gewebsreaktion auffassen würde. Für eine geringe fibroplastische Wirkung der amorphen Kieselsäure sprachen sich noch andere Autoren aus (Gye und Purdy, Gardner, Stacy und King). Zu entsprechenden Ergebnissen gelangten Schepers und Mitarb. in umfangreichen Tierexperimenten nach verschiedenen Applikationsarten von Aerosil (Degussa). Sie fanden allerdings, daß sich die in Beatmungsversuchen erzeugten Knötchen nach Herausnahme der Tiere aus dem Staubmilieu schnell zurückbildeten. Strecker fand

viele Parallelen mit der Gewebsreaktion des Quarzes, als es ihm gelang, die Lösungsgeschwindigkeit des Aerosil durch Veresterung mit Trimethylsilyl zu vermindern und ihm dadurch die toxische Wirkung zu nehmen. Während der Ablösung der Belegung trat zunächst eine quarzähnliche Wirkung ein, nach der Ablösung kehrte die toxische Wirkung zurück.

Neben qualitativ-morphologischen Untersuchungen sind zahlreiche Autoren der Frage nach der quantitativen Bestimmung des Fasergehaltes in Granulomen und silikotischen Lungen nachgegangen. Die Untersuchungen wurden mit halbquantitativen morphologischen oder chemischen Verfahren durchgeführt. Unter den chemischen Bestimmungen des Fibrosegrades hat der quantitative Hydroxyprolinnachweis die größte Bedeutung.

Turrian Grandjean und Nicod zeigten bei Versuchen am Mesenterium, daß das Gewicht der Knötchen von der Dosis und der Wirkungskdauer des applizierten Staubes abhängt. In anderen Untersuchungen wiesen Grandjean, Turrian und Nicod und Glömme auf die Möglichkeit hin, aus dem Lungenfeuchtgewicht den Grad der Bindegewebsvermehrung zu bestimmen. Diese Untersuchungen wurden kürzlich von Chvapil einer Kritik unterzogen und die Brauchbarkeit dieser Methoden angezweifelt. Van Marwyk unternahm den Versuch, die Größe der Granulome im Peritoneum als Maßstab für die Beurteilung der silikogenen Wirkung eines Staubes zu verwenden. 1945 hatten bereits Belt und King anhand des mikroskopischen Befundes quantitative Aussagen über den Fibrosegrad gemacht und nach dem Fasergehalt der Granulome fünf verschiedene Entwicklungsgrade der Silikose unterschieden. Für diese halbquantitative Beurteilung wandten sie Versilberungsmethoden zur Unterscheidung von Retikulin- und Kollagenfasern an. Diese Einteilung wurde von zahlreichen anderen Untersuchern übernommen (Zaidi, King, Harrison und Nagelschmidt, King, Mohanty, Harrison und Nagelschmidt, Klosterkötter). Van Marwyk hat sein quantitativ-morphologisches Verfahren (Bestimmung des Verhältnisses der großen zu den kleinen Knötchen) mit mikroskopischen Faserbestimmungen kontrolliert. Die Differenzierung der einzelnen Bindegewebskomponenten und andere histologische Merkmale wie die Schärfe der Begrenzung

der Granulome und die unterschiedliche Anordnung der Fasern wurden von Jäger und Müller für eine weitere quantitative Bewertung ausgenutzt.

Die gebräuchlichste chemische Methode zur quantitativen Bestimmung des Fasergehaltes in Organen ist die kolorimetrische Bestimmung des Hydroxyprolins nach Neumann und Logan. Sie wurde in der Staublungenforschung zuerst von Stacy und King, später von Rivers und Morris, Glömme und Chvapil angewandt und modifiziert. Die Unterschiede in den Ergebnissen der einzelnen Untersuchungen sind hauptsächlich auf die Aufarbeitungsmethoden der untersuchten Gewebe oder Organe zurückzuführen. Die am besten geeignete Methode ist die Aufschließung des Gewebes mit Formamid (Thomas und Stegemann). Auf die quantitativen Verfahren zur Bestimmung der Staubmenge im Gewebe soll an dieser Stelle nicht eingegangen werden, da diesen Verfahren Fragestellungen zu Grundeliegen, die den Rahmen unserer Untersuchungen übersteigen.

IV. B e s p r e c h u n g

a) Die qualitativen und quantitativen Unterschiede in der Entwicklung des Quarz- und Aerosilgranuloms.

In den Spätstadien experimenteller Staubgranulome ist die silikogene Wirkung der Stäube am Grad ihrer Fibrosierung erkennbar. Nordmann, Löblich und Koch sind bei ihren Untersuchungen von der Annahme ausgegangen, daß u.U. schon in der Frühphase der Granulomentwicklung morphologische Hinweise auf Unterschiede der pathogenetischen Wirkung von Kieselsäuremodifikationen gegeben sind. Sie sahen bei Lebendbeobachtung in der frühzeitigen Umhüllung der Staubteilchen und in der dadurch bedingten Depotbildung einen Grund für das weitere knötchenartige Wachstum der Granulome. Ihre Beobachtungen können durch unsere Versuche mit Quarz insofern bestätigt werden, da auch wir nach dem Auftreten eines fibrinösen Exsudats in den ersten drei Tagen schon eine deutliche Abgrenzung des Granuloms durch einen breiten Fibrinwall mit zarten Retikulinfasern und Fibroblasten erkennen konnten. Die Quarzteilchen lagen teils intrazellulär, teils frei im Exsudat. Die vielfach bewie-

sene Tatsache, daß Quarz in gleicher Weise wie andere Stäube bis zu einer bestimmten Korngröße phagozytiert wird, spricht für die von uns schon früher vertretene Ansicht, daß die Aufnahme der Stäube im Gewebe in erster Linie physikalischen Gesetzen unterliegt, nämlich von der Korngröße und Form abhängig ist und weniger von ihren chemischen und mineralogisch-chemischen Eigenschaften. So hat vor einiger Zeit Buckup gezeigt, daß die schädliche Wirkung eines Staubes keinen Einfluß auf seine Phagozytose hat.

Die von den Quarzteilchen intrazellulär in Lösung gehende Monokieselsäure bedingt möglicherweise zunächst eine Aktivierung des Zellstoffwechsels (Löblich) und kann nach Anreicherung im Cytoplasma (Polymerisation) zu Nekrobiose und schließlich zum Zelltod führen. Die dadurch freigewordenen Quarzkristalle werden entweder erneut phagozytiert oder von organischen Substanzen festgehalten. Antweiler und Hirsch konnten nämlich bei allen Quarzformen eine Einhüllung der Teilchen in homogenes Serumweiß nachweisen, was ähnliche Ergebnisse elektronenoptischer Untersuchungen von Klosterkötter und Themann zu bestätigen scheinen. Andererseits bilden sich nach neueren Untersuchungen von Gedick und Pioch auch in den Zellen um phagozytierte Fremdkörper organische Trägersubstanzen die die Aufgabe der Neutralisierung des schädigenden Einflusses des Fremdstoffes haben. Diese Vorgänge spielen möglicherweise für die Weiterentwicklung der Granulome eine Rolle. Polioard ist der Ansicht, daß durch die Bindung von Eiweißstoffen an die Quarzoberfläche die toxische Wirkung des Quarzes vermindert wird. Das könnte die auch bei unseren Versuchen bestätigte Beobachtung erklären, daß die zweite einsprossende Zellgeneration deutlich weniger geschädigt wird. Damit stimmt auch das Ergebnis unserer quantitativen Untersuchungen überein, nach dem die Verringerung der Zellzahl vom 7. Tag an nur langsam erfolgt. Andererseits ist gerade der dauernde Zelluntergang, den wir auch noch nach längerer Versuchsdauer nachweisen konnten, typisch für die Quarzwirkung (Klosterkötter und Themann). Löblich schließt deshalb aus den Ergebnissen elektronenmikroskopischer Untersuchungen, daß diese einhüllenden Eiweißsubstanzen durch

proteolytische Zellfermente immer wieder abgelöst werden.

In Anlehnung an Policard können wir die Gewebsreaktionen der ersten vier Tage bei unseren Quarzversuchen als die akute Phase I der Entwicklung des Quarzgranuloms bezeichnen. Darunter verstehen wir allerdings - wie auch Rüttner - nur die unspezifisch-exsudativ-entzündliche Frühreaktion, die auch nach Applikation inerter Stäube nachweisbar ist.

Das in den ersten drei bis vier Tagen uncharakteristisch aufgebaute Knötchen bekommt mit dem Übergang in das zelluläre Stadium II (nach Policard) eine typische Struktur. Bei Abnahme der Exsudatzellen und starker Wucherung phagozytischer und nichtphagozytischer Zellen (Policard und Collet) von der Peripherie her ist bis zum 14. Versuchstag eine deutliche Dreischichtung des Granuloms zu erkennen. Während die Peripherie schon breite Kollagenfasern enthält, besteht die Mittelzone aus dicht liegenden Fibroblasten mit Wachstumsrichtung auf das Granulomzentrum. Zu diesem Zeitpunkt sahen wir schon zahlreiche ins Zentrum eingedrungene Fibroblasten und Zelltrümmer in einem zusehendsdichter werdenden Netz von Retikulinfasern. Giese und di Biasi haben darauf hingewiesen, daß zunächst auch bei den Frühformen der Silikose des Menschen bei Silberimprägnation eine Wucherung retikulären Gewebes und wenig später auch die Bildung kollagener Fasern im Zentrum nachweisbar ist. Von Rüttner wurde der Beginn der Faserentstehung im Zentrum angenommen. Diese Autoren schließen daraus, daß die ersten charakteristischen silikotischen Veränderungen im Zentrum des Granuloms einsetzen. Neben der zentralen Faserbildung sahen wir in Bestätigung früherer Untersuchungen mit Kieselgur (Löblich) auch im jungen Quarzgranulom eine Faserbildung an der Peripherie. In den Granulomen zeigte sich eine deutliche Beziehung der Faserbildung zu Fibroblasten und nekrobiotischen Makrophagen. Wie auch schon von Policard mehrfach betont wurde, kann diese Tatsache als Hinweis dafür dienen, daß die Zellschädigung durch die stets wieder frei werdenden Quarzteilchen die Faserbildung anregt. Strecker gelang es durch Maskierung der Quarzoberfläche Nekrosen zu vermeiden. Dadurch traten erst nach zwei Monaten spärliche Retikulinfasern und nach einem halben Jahr eine deutlich

zunehmende Faserbildung auf. Auch di Biasi konnte bei der Silikose des Menschen im Frühstadium Nekrosen nicht regelmäßig nachweisen. Kikuth, Schlipköter und Roths und Kersten und Staudinger nehmen an, daß durch die Kieselsäure die Zellatmung gestört wird, und daß dadurch die Faserbildung induziert wird. Eine Stellungnahme zu diesen Fragen ist naturgemäß nach unseren lichtmikroskopischen Beobachtungen nicht möglich.

Wir haben nicht wie Policard eine Abgrenzung vom Stadium II der Granulomentwicklung zum Stadium III vorgenommen, da der Übergang vom zellulären zum fibrösen Knötchen fließend erfolgt und je nach persönlicher Auffassung des betrachtenden Histologen verschieden beurteilt wird.

Die Wachstumsrichtung des Quarzgranuloms war während der ersten zwei Monate zentripetal. Nach abgeschlossener Organisation des Zentrums durch praekollagene und kollagene Fasern setzte eine Umkehr der Wachstumsrichtung ein. Fibroblasten und Fibrozyten, die bisher von der Mittelschicht in das nekrotische Zentrum einwanderten, durchdrangen die konzentrische Faserkapsel und bildeten eine deutliche periphere Wachstumszone mit exzentrischer Wachstumsrichtung. Wahrscheinlich gelangen die intrazellulären Quarzteilchen mit den Makrophagen in die Peripherie des Knötchens. Ein extrazellulärer Transport und erneute periphere Phagozytose ist jedoch nicht sicher auszuschließen. Unsere Beobachtungen bestätigen Untersuchungen von Belt der nach Mikroveraschung außer einem quarzreichen Zentrum, das von einer Faserhülle umgeben war, noch einen Außenring fein verteilter Quarzteilchen sah. Mottara konnte jedoch mit polarisiertem Licht in der Peripherie der Quarzgranulome keine Quarzkristalle erkennen. Da aber der größte Teil dieser Kieselsäureteilchen außerhalb des zentralen Kerns an organischen Substanzen (Fibrin) hängen bleibt, ist er nur durch Veraschung und nicht in polarisiertem Licht zu erkennen (King und Nagelschmidt). Während das Zentrum langsam hyalinisiert, wuchs das Knötchen durch Faserapposition, was ja auch vom Studium der Silikose des Menschen schon bekannt ist (Rüttner, di Biasi).

Nach Beendigung unserer Versuche (drei Monate) hatte sich ein rundliches Knötchen am Boden der Granulomentasche

gebildet, das aus großem hyalinisiertem Zentrum, umschließenden konzentrischen Faserzügen und einer schmalen Peripherie aus Staubzellen bestand und somit die charakteristische Struktur des silikotischen Knötchens zeigte.

Nach Aerosilapplikation traten in den ersten fünf Versuchstagen ausgedehnte Nekrosen auf. Es ist sicher zu nehmen, daß auch die Aerosilteilchen erst nach intrazellulärer Resorption ihre Wirkung entfalten, da diese in erster Linie auf ihrer großen Lösungsgeschwindigkeit beruht (Charbonnier, Klosterkötter). Beim Vergleich mit dem Quarzgranulom zeichnet sich das Aerosilgranulom durch ausgedehntere Nekrosen und eine zunächst unscharfe Abgrenzung gegenüber dem umgebenden Gewebe aus. Weiterhin war die akute Entzündungsphase bei unseren Aerosilversuchen insofern verlängert, als am 4. und 5. Tag die Exsudatzellen prozentual noch viel häufiger waren als im fibroblastenreichen Quarzgranulom. Nach einer Woche ist der größte Teil der nekrotischen Massen jedoch bereits resorbiert und die zelluläre Phase der Granulomentwicklung setzt ein. Im weiteren Verlauf werden nach elektronenoptischen Untersuchungen von Klosterkötter und Themann die Aerosilteilchen in der Zelle zum Teil verklumpt und an biologische Trägersubstanzen gebunden. Damit könnte die von uns beobachtete Abnahme des progressiven Zelluntergangs von der dritten Versuchswoche an erklärt werden. In der zweiten Phase der Granulomentwicklung stand eine massive Fibroblastenwucherung aus der Umgebung und die zelluläre Organisation als morphologischer Ausdruck einer proliferativen Entzündung im Mittelpunkt des Geschehens. Die Struktur des Aerosilgranuloms bleibt jedoch weiterhin ungeordneter als die des Quarzgranuloms. Eine deutliche Mittelschicht war nicht zu erkennen, die gebildeten Retikulin- und Kollagenfasern zeigten nicht das geordnete Wachstum wie im Quarzgranulom. Erst nach drei bis vier Wochen wurde ein breiter Granulationssaum gebildet, während das Zentrum noch wenig organisiert war. Bis zum dritten Monat entwickelte sich ein zellreiches Knötchen mit ziemlich gleichmäßiger Faserdurchflechtung. Es zeigten sich keine deutliche Umkehr der Wachstumsrichtung und keine Anzeichen von Hyalinisierung; ebenso fehlte der dreischichtige Aufbau des Quarzgranuloms.

Den Grund für die fehlende Weiterentwicklung zum typischen silikotischen Knötchen sieht Strecker in erster Linie darin, daß es im Tierexperiment nicht gelingt, die unter 200 Å messenden Aerosilteilchen für genügend lange Zeit im Granulom festzuhalten. Klosterkötter ist ebenfalls der Ansicht, daß besonders kleine Staubeilchen sehr schnell abtransportiert werden. Auch er beobachtete deutliche Bindegewebsbildung nachdem er die Oberfläche der Aerosilteilchen durch einen Peristonzusatz blockiert hatte. Bei seinen Versuchen sah er aber keine typische progressive noduläre Fibrose, sondern vielmehr in zellreichen Knötchen überall diffuse Faserbildung, in zellarmen nur am Rande ohne deutliche konzentrische Schichtung. Unsere Versuchsanordnung kann mit der von Strecker und Klosterkötter verglichen werden, weil wir durch Anwendung der Granulomtaschentechnik über längere Zeit hohe Gewebskonzentrationen mit wahrscheinlich herabgesetzter Lösungsgeschwindigkeit des Aerosils erzielen konnten.

Bei den bisherigen vergleichenden Untersuchungen mit Quarz und amorpher Kieselsäure standen stets die fibroplastischen und toxischen Wirkungen im Mittelpunkt der Erörterung. Die Ergebnisse zeigten morphologisch jedoch nur graduelle Unterschiede. Wir sind bei unseren Untersuchungen aber von der Wachstumsform und dem Strukturwandel der Granulome im Laufe ihrer Frühentwicklung ausgegangen und sind dabei zu dem Ergebnis gekommen, daß sich hierbei verschiedene Anhaltspunkte ergeben, die auf Unterschiede in der pathogenetischen Wirkungsweise der Stäube hinweisen. Schon während der akuten Entzündungsphase sind im Aufbau der Granulome Unterschiede feststellbar. Sie beruhen allerdings neben physikalischen Ursachen (Größe und Form der Stäube) auf der höheren Löslichkeit der amorphen Kieselsäure und damit ihrer größeren toxischen Wirkung. Doch bereits nach wenigen Wochen beobachteten wir im Quarzgranulom eine wesentlich andere Entwicklungsform als im Aerosilgranulom, die bis zum dritten Monat immer deutlicher wurde. Das Quarzgranulom zeigte zunächst einen typischen Aufbau aus Zentrum, fibroblastenreicher Mittelschicht und einer konzentrischen peripheren Faserschicht und ist in den beiden ersten Monaten durch das deutlich nach innen gerichtete Wachstum gekennzeichnet. Nach dem

Abschluß der fibrösen Organisation des Zentrums werden die Fasern hyalinisiert, während die nun periphere Fibroblasten-Staubzell- und Fibrozytenschicht exzentrische Wachstumsrichtung zeigt. Im Gegensatz dazu wird das Zentrum des Aerosilgranuloms erst später organisiert und in dem ungeordneten Nebeneinander von Zellen und Fasern ist ein Aufbau aus verschiedenen Schichten nur schwer zu erkennen.

Wie bei unseren qualitativ-histologischen Untersuchungen kam es uns auch bei den quantitativen weniger auf die Feststellung des absoluten Fasergehaltes an, sondern vielmehr auf die Abgrenzung des Verhältnisses der einzelnen Gewebelemente zueinander, um genaue Aussagen über die Wachstumsform der Granulome machen zu können. Die üblichen biochemischen Methoden, wie Hydroxyprolinnachweis zur Faserbestimmung und Nukleinsäurenachweis zur Bestimmung der Menge der Zellen, sind nach unserer Auffassung nicht dazu geeignet, um während der Frühentwicklung der Granulome sichere Aussagen über die quantitativen Verhältnisse machen zu können.

Der Vergleich der Prozentanteile der Nekrosen im Quarz- und Aerosilgranulom beweist in Bestätigung der zahlreichen Untersuchungen mit amorpher Kieselsäure ihre höhere toxische Wirkung gegenüber den kristallinen Modifikationen. Wir können aus den Ergebnissen neben diesen quantitativ erfaßten Wirkungen der beiden Stäube weiter nachweisen, daß die Zellen im Staubherd zuerst sehr zahlreich sind, dann weitgehend der Nekrose verfallen. Nach einer Woche ist - in Übereinstimmung mit unseren qualitativen Ergebnissen - eine neue Zellform entstanden. Dieser Ablauf ist im Prinzip bei beiden Granulomen gleich. Nach dem Auftreten der ersten quantitativ faßbaren Faserbildung sahen wir im Quarzgranulom bis zu einem Monat eine sehr schnelle Faserzunahme. Im Aerosilgranulom ist diese etwas verzögert. Bei der in den beiden folgenden Monaten nur langsamen Faservermehrung ist zwischen Quarz- und Aerosilgranulom kein nennenswerter Unterschied mehr vorhanden.

Die quantitativen Ergebnisse sprechen gegen die Möglichkeit, in den ersten drei Monaten aus der quantitativen Nekrosen-Zell-Faserrelation auf die silikogene Wir-

kung eines Staubes zu schließen. Nach dem Vergleich mit unseren qualitativ-histologischen Ergebnissen halten wir die Verteilung und Anordnung der Bindegewebsfasern bei der Beurteilung der silikogenen Wirkung für wesentlicher als den quantitativen Fasernachweis.

b) Zur Pathogenese des Quarz- und Aerosilgranuloms

Die bisherigen experimentellen Untersuchungen über die Wirkungsweise der verschiedenen Kieselsäureformen stimmen darin überein, daß die kristalline Kieselsäure eine progressiv fibrosierende Wirkung entfaltet und imstande ist typische silikotische Knötchen zu erzeugen. Ob die amorphen Kieselsäureformen außer einer erwiesenen fibroplastischen Wirkung auch silikogen wirken können, ist bis heute noch nicht entschieden. Die Anhänger der Löslichkeitstheorie (Gye und Kettle u.a.) halten die im Organismus in Lösung gehende Kieselsäure für die fibrosierende Wirkung für verantwortlich. Neben zahlreichen anderen Autoren konnten wir nach unseren qualitativen und quantitativen Ergebnissen die Toxizität des Aerosil und ebenso seine fibrosierende Wirkung bestätigen. Nach unseren Ergebnissen ist die Granulomentwicklung nach Aerosilapplikation - wie nach den Aerosilversuchen von Jötten und Gärtner und Schepers - nach drei Monaten im wesentlichen abgeschlossen. Die Ursache der Faserbildung soll nach Kikuth mit der Vergiftung der Zellen durch die gelöste Kieselsäure zusammenhängen. Aus unseren qualitativen und quantitativen Untersuchungen ging ebenfalls hervor, daß zwischen Zelluntergang und Faserbildung eine enge Beziehung besteht.

Nach Jäger und Seifert sind jedoch nicht die in Lösung gehenden Kieselsäureteilchen, sondern nur die kristallinen Formen der Kieselsäure für die Faserbildung verantwortlich. Ihrer Oberflächenaktivitätstheorie liegt die Vorstellung zu Grunde, daß die Struktur der Grenzflächen der Quarzkristalle strukturverwandte Proteinmoleküle nach Art einer Dipol-Dipol-Anziehung an sich koppeln und pathologische Eiweißverbindungen als Ursache der fibroplastischen Vorgänge erzeugen. Mit unseren morphologischen Methoden ist eine Stellungnahme zu dieser Theorie nicht

möglich. Unsere Versuchsergebnisse mit amorpher Kieselsäure können sie nicht entkräften. beweisen aber, daß auch amorphe Formen während der Frühphasen der Granulomentwicklung eine fibrosierende Wirkung entfalten können.

Zu einer weiteren heute viel diskutierten Theorie der Silikoseentstehung, der sogenannten Immunitätstheorie (Vigliani, Pernis und Mottura) können wir nach dem Ergebnis unserer morphologischen Beobachtungen ebenfalls keine Stellung nehmen. Diese Autoren führen die Entstehung silikotischer Knötchen auf immunologische Vorgänge zurück. Mottura sieht in der plasmazytären Umwandlung der zweiten Phase der Histiozytenwucherung einen morphologischen Anhaltspunkt für seine Theorie, da die Plasmazellen als Träger der Antikörper gelten, eine Ansicht, die allerdings noch nicht erwiesen ist (Büngeler und Rotter). Wir haben nur in manchen Granulomen vereinzelt Gruppen von Plasmazellen gefunden, hatten aber nicht den Eindruck, daß wesentliche Unterschiede im Plasmazellgehalt des Quarz- und Aerosilgranuloms vorhanden waren.

c) Der Wert der Granulomtaschentechnik als biologischer Test

Nach dem Ergebnis unserer Tierexperimente erscheint uns die Granulomtaschentechnik als Modellversuch für zahlreiche Fragen der experimentellen Staublungenforschung sehr geeignet zu sein. Wir haben sogar den Eindruck gewonnen, daß diese Methode praktischer und leichter durchführbar ist als der Peritonealtest, besonders für die Prüfung toxischer Stäube. Ihre Vorteile gegenüber dem Peritonealtest beim Vergleich der verschiedenen Staubwirkungen sind:

- 1) Es gelingt, den injizierten Staub quantitativ besser zu erfassen.
- 2) Die Reaktion im Mesenchym am Boden der Granulomtasche ist nicht so heftig wie am stark reagierenden Peritoneum.
- 3) Die Granulome sind ziemlich groß (meistens solitäre Knoten), zeigen gegenüber dem umgebenden normalen Gewebe eine klare Abgrenzung, lassen sich leicht aus der Granulomtasche herauspräparieren und gravimetrisch bestimmen, sind also für quantitative Messun-

gen sehr geeignet.

V. S c h l u ß b e t r a c h t u n g e n

Die vorliegenden Untersuchungen der Granulome nach Applikation kristalliner und amorpher Kieselsäure bilden einen weiteren Beitrag zur Frage nach den morphologischen Unterschieden während der Frühentwicklung verschiedener Staubgranulome. In Erweiterung früherer Untersuchungen haben wir auch die Eignung quantitativer Methoden geprüft. Wir konnten im Frühstadium eine gute Übereinstimmung zwischen den qualitativen und quantitativen histologischen Ergebnissen innerhalb der einzelnen Versuchsreihen feststellen. Wider Erwarten zeigte aber beim Vergleich des Quarz- und Aerosilgranuloms mit quantitativen Untersuchungen der Fibrosegrad im Gegensatz zu den qualitativ-histologischen Feststellungen nur unbedeutende Unterschiede. Wir sind deshalb der Auffassung, daß zur Prüfung der silikogenen Wirkung von Fremdstäuben in den frühen Entwicklungsphasen besonders die Wachstumsform, die Struktur und die Anordnung der Fasern berücksichtigt werden muß. Quantitative Untersuchungen allein können daher in der Frühphase der Granulomentwicklung zu falschen Deutungen führen. Über die Art der Wirkungsweise der Stäube im einzelnen können wir anhand unserer histologischen Ergebnisse keine bindenden Aussagen machen. Die Strukturunterschiede zwischen dem Quarz- und Aerosilgranulom legen jedoch die Vermutung nahe, daß bereits in den Frühstadien der Entwicklung - nach Abklingen der exsudativ entzündlichen Frühreaktion - Unterschiede in der pathogenetischen Wirkungsweise der kristallinen und amorphen Kieselsäure vorhanden sind.

VI. Z u s a m m e n f a s s u n g

Es wird in vergleichenden qualitativen und quantitativen Untersuchungen mit kristalliner (Quarz) und amorpher Kieselsäure (Aerosil) die Relation von Zellen, Fasern und Nekrosen in einem Zeitraum von 1-84 Tagen bestimmt. Dazu werden in der Rückenhaut von Ratten Luftblasen gesetzt, in die je eine 1%ige Staubaufschwemmung

injiziert wurde (Granulomtaschentechnik von Selye).

Der Zellgehalt der Granulome ist nach 24 Stunden groß und nimmt bis zum dritten Tag zugunsten nekrotischer Bezirke stark ab. Im Aerosilgranulom konnte eine quantitativ deutlich verstärkte Nekrose festgestellt werden. Die bei beiden Granulomformen einsprossende zweite Zellgeneration wird wesentlich weniger geschädigt und beherrscht vom 7. Tag an das Bild vollkommen.

Die zweite Phase der Granulomentwicklung ist durch eine langsame Verdrängung der Zellen durch zunehmende Entwicklung von retikulären und kollagenen Fasern gekennzeichnet. Die quantitativen Untersuchungen zeigen während der Frühphase der Granulomentwicklung bis zu drei Monaten keine signifikanten Unterschiede in der fibroplastischen Wirkung der von uns verwandten Stäube. Dagegen kann mit qualitativ-histologischen Methoden die Entwicklung des Quarzgranuloms zum typischen silikotischen Knötchen bereits während der ersten drei Monate festgestellt werden. Das Aerosilgranulom besteht nach drei Monaten lediglich aus einem zell- und faserreichen uncharakteristischen Granulationsgewebe.

Die Stadien der Granulomentwicklung, die formale Genese und die Bedeutung der Ergebnisse für die Theorie der Staublungenpathogenese werden erörtert.

VII. L i t e r a t u r v e r z e i c h n i s

1. Antweiler, H.: Untersuchungen zur Frage der akuten Organwirkung gelöster Oligo- und Poly-Kieselsäuren im Tierexperiment. Beitr. z. Sil.-Forschg. 29, 19-51 (1954)
2. Antweiler, H. u. Hirsch, E.: Über den Nachweis von Antikörpern nach Einwirkung von Quarzstaub und anderen Stäuben im Tierexperiment. Die Staublungenerkr. 3, 161-168 (1958)
3. Belt, T.H.: zitiert nach King, E.J. und Nagelschmidt, G.: - Die Staublungenerkr. 2, 93 (1954)
4. Belt, T.H. und King, E.J.: Tissue Reaction Produced Experimentally by Selected Dusts. III. Med. Res. Coun. Spec. Rep. Ser. London 250, 29 (1945)
5. di Biasi, W.: Die pathologische Anatomie der Silikose. Beitr. z. Sil.-Forschg. 3 (1949)
6. Buckup H.: Die Staubphagozytose und deren Bedeutung für die Silikoseätiologie. Arch. f. Hyg. 132, 273-298 (1950)
7. Büngeler, W. und Rotter, W.: Blut und blutbildende Organe. Aus Kaufmann: Lehrbuch der speziellen Pathologie (1955)
8. Charbonnier, J.: Toxicité et novicité de silices amorphes en relation avec leur finesse et leur ritesse de dissolution. Die Staublungenerkr. 3, 215-220 (1958)
9. Chvapil, M.: Möglichkeiten einer quantitativen Bestimmung des Fibrosegrades bei der Untersuchung experimenteller Silikose. Beitr. z. Sil.-Forschg. 64 (1960)
10. Curran, R.C.: The effect of cortisone on the reaction of the mouseperitoneum to quartz. Brit. Journ. Exper. Path. 33, 82-86 (1952)
11. Dernehl, C.K., Nau C.A., Frank T.M. and Neidhardt, H.W.: Experimental studies on the action of silica gel catalyst administered to guinea pigs by inhalation. Journ. Industr. Hyg. 31, 32-40 (1949)
12. Filley, G.F., Hawley, J.G. and Wright, G.W.: - Journ. Industr. Hyg. and Toxicol. 27, 37 (1945)
13. Gardner, L.U.: zitiert nach Rüttner, J.R., Willy, W. und Baumann, A.: - Schweiz. Zschr. f. allgem. Path. u. Bakt. 3, 17 (1954)

14. Gärtner, H.: Der derzeitige Stand der Staublungenforschung. Die Staublungenerkr. 2, 3-16 (1954)
15. Gärtner, H.: Untersuchungen über die Wirkung feinkörniger, amorpher Kieselsäure in der Lunge von Kaninchen. Arch. f. Hyg. 136, 451-467 (1952)
16. Gedigk, P. und Piech, W.: Über die Bildung von organischen Substanzen in Siliciumdioxidgranulomen. Virch. Arch. 328, 513-535 (1956)
17. Giese, W.: Silicium, Silicate, Silikose. Klin. Wschr. 19, 558-560 (1940)
18. Giese, W.: zitiert nach di Biasi, W.: - Beitr. z. Sil.-Forschg. 3 (1949)
19. Glömme, J.: Die quantitative Auswertung experimenteller Lungenfibrose nach intratrachealer Injektion von SiO_2 Suspensionen. Die Staublungenerkr. 3, 176-181 (1958)
20. Grandjean, E., Turrian, H. and Nicod, J. L.: The Fibrogenic Action of Quartz Dusts. A.M.A. Arch. of Industr. Health 14, 426 (1956)
21. Gye, W.E. and Kettle, E.H.: - Brit. Journ. Exper. Path. 5, 238 (1924)
22. Gye, W.E. and Purdy, W.: The poisonous properties of colloidal silicia. Brit. Journ. Exper. Path. 3, 75-94 (1922) und 5, 238-250 (1924)
23. Jäger, R.: Die Staublungenerkrankungen. Wiss. Forschungsbericht Bd. 60 Dietrich Steinkopf-Verlag, Darmstadt (1950)
24. Jäger, R. und Müller, J.: Grundfragen der Silikoseforschung. Beitr. z. Sil.-Forschg. 8, 105 (1956)
25. Jötten, K.W. und Gärtner, H.: zitiert nach Klosterkötter, W.: - Die Staublungenerkr. 2, 74 (1954)
26. Kersten, W. und Staudinger, H.J.: Zum Silikoseproblem. Naturwiss. 43, 68 (1956)
27. Kikuth, W.: Elektronenoptische Untersuchungen zum Silikoseproblem. Die Staublungenerkr. 3, 353-367 (1958)
28. Kikuth, W.: Neue Gesichtspunkte zum Entstehungsmechanismus der Silikose. Deutsche Med. Wschr. 41, 1633-1635 (1956)
29. King, E.J.: - Occup. Med. 4, 26 (1947)
30. King, E.J., Mohanty, G.P., Harrison, C.V. and Nagelschmidt, G.: - Brit. Journ. Industr. Med. 10, 9 (1953)

31. King, E.J. und Nagelschmidt, G.: Die pathologische Wirkung verschiedener Mineralstäube im Tierversuch. Die Staublungenerkr. 2, 84-94 (1954)
32. Klosterkötter, W.: Die Wirkung verschiedener Kieselsäureformen im Tierexperiment. Die Staublungenerkr. 2, 73-84 (1954)
33. Klosterkötter, W.: Weitere Untersuchungen über die Gewebswirkung kolloidaler und molekular gelöster Kieselsäure. Arch. Hyg. 137, 307-316 (1953)
34. Klosterkötter, W.: Zur Frage der silikogenen Wirkung des amorphen Siliciumdioxys. Die Staublungenerkr. 3, 236-247 (1958)
35. Klosterkötter, W.: - Arch. Hyg. u. Bakt. 137, 69 (1953)
36. Klosterkötter, W. und Jötten, K.W.: - Arch. Hyg. u. Bakt. 137, 625 (1953)
37. Klosterkötter, W. und Themann, H.: Elektronenmikroskopische histologische Untersuchungen über die Gewebswirkungen verschiedener Si O₂ Formen. Die Staublungenerkr. 3, 373 (1958)
38. Koppenhöfer, G.F.: - Virch. Arch. 297, 271 (1936)
39. Löblich, H.J. Die Staublungende der Kieselgurarbeiter. Veröffentlichungen aus der morphologischen Pathologie. Heft 61 (1959)
40. Löblich, H.J. Elektronenmikroskopische Untersuchungen über die Entwicklung des Staubgranuloms. Beitr. z. Sil.-Forschg. in Vorbeg.
41. Lühning, W.: Über pharmakologische Wirkungen gelöster Kieselsäure mit niedrigem und hohem Polymerisationsgrad. Beitr. z. Sil.-Forschg. 28, 33-48 (1952)
42. Magarey, F.R. and Gough, J.: The effect of cortisone on the reaction to quartz in the peritoneal cavity. Brit. Journ. Exper. Path. 33, 76-81 (1952)
43. van Marwyk, Ch.: Der Peritonealtest. Die Staublungenerkr. 2, 95-105 (1954)
44. Miller, J.W. and Sayers, R.R.: The physiological response of the peritoneal tissue to dusts introduced as foreign bodies. Publ. Health. Rep. Wash. 49, 80-89 (1934)
45. Miller, J.W., Sayers, R.R. and Yant, W.P.: Response of peritoneal tissue to dusts introduced as foreign bodies. Journ. Amer. Med. Ass. 103, 907-912 (1934)

46. Mottura, G.: Contributi isopathologici sullo sviluppo sperimentale delle Lesioni Silicotici con particolare considerazione dei fattori immunopathologici. *La Medicina del Lavoro* Vol 49, 13-17 (1958)
47. Mottura, G.: Histopathologische Beiträge zur experimentellen Entwicklung von silikotischen Veränderungen mit Berücksichtigung immunbiologischer Faktoren. *Die Staublungenerkr.* 3, 153-158 (1958)
48. Neumann, R.E. and Logan, M.A.: The Determination of Collagen and Elastin in Tissues. *Journ. biol. Chem.* 186, 549 (1950)
49. Nordmann, M., Löblich, H.J. und Koch, W.: Zur Pathologie der Lymphstrombahn. *Beitr. z. Sil.-Forschg.* 28, 51-63 (1954)
50. Policard, A., et Collet, L.: Etude au microscope electronique des reactions cellulaires experimentales a la silicia. *Die Staublungenerkr.* 3, 368-373 (1958)
51. Policard, A., Collet, L. et Pregermain, S.: De l'Evolution de la Population cellulaire dans les lesions pulmonaires silcotiques experimentales. *Presse medicale* 67 Nr.15, 579-582 (1959)
52. Policard, A. et Tuchmann-Duplessis, H.: Influence de l'hormone corticotrope hypophysaire (ACTH) sur la dissemination dans l'organisme des particules introduites dans la peritoine. *Compt. rend. Acad.sc., Paris* 232, 1888-1890 (1951)
53. Rivers, D. und Morris, T.G.: Quantitative Bestimmung der fibroseerzeugenden Wirkung von Staub im Tierexperiment. *Die Staublungenerkr.* 3, 181-189 (1958)
54. Rüttner, J.R.: Betrachtungen zur Entstehung der Silikose, besonders des Silikoseknötchens. *Beitr. z. Sil.-Forschg. Sonderband: Grundfr. aus d. Sil.-Forschg* 3, 229-236 (1958)
55. Rüttner, J.R.: Die Gewebsreaktionen auf Mineralstäube im Peritonealttest an der Maus. *Die Staublungenerkr.* 2, 106-111 (1954)
56. Rüttner, J.R.: - *Zentralbl. f. allgem. Path. u. Bakt.* 13, 6 (1953)
57. Rüttner, J.R. und Willy, W.: - *Zentralbl. f. allgem. Path. u. Bakt.* 16, 2 (1953)

58. Rüttner, J.R., Willy, W. und Baumann, A.: Tierexperimentelle Studien zur Wirkung von amorpher kolloidaler und kristalliner Kieselsäure. Schweiz. Zschr. f. allgem. Path. u. Bakt. 3, 17 (1954)
59. Sayers, R.R.: Health hazards in the mining industry. U.S. Bureau of mines, Report of Investigation 542-551 (1924)
60. Schepers, G.W.H.: The Biological Action of Degussa Flame Process Submicron Amorphous Silicia Dust. Repr. from A.M.A. Archives of Industr. Health (1957)
61. Schiller, E.: The influence of hormones on the development of silicotic nodules produced by intraperitoneal injection of quartz. Brit. Journ. Industr. Med. 10, 1-8 (1953)
62. Schiller, E.: - Verhandl. Anat. Ges. 50. Jhrvers. Marburg 287 (1952)
63. Schlipkoter, H. und Rothes, I.: Die Entstehung einer nodulären Fibrose nach intratrachealer Injektion eines Kieselsäuresols in Rattenlungen. Zschr. f. Hyg. 142, 487-501 (1956)
64. Schwarz, R. und Baronetzky, E.: Zum Silikoseproblem. Naturwiss. Jhrg. 43 3, 68 (1956)
65. Seifert, H.: Neue experimentelle Untersuchungen zur Grenzflächenaktivitätstheorie. Die Staublungenerkr. 3, 3-26 (1958)
66. Selye, H.: Use of "granuloma pouch" technic in the study of antiphlogistic corticoids. Proc. Soc. Exper. Biol. a. Med. 82, 328 (1953)
67. Siegmund, H.: Untersuchungen zur Pathogenese silikotischer Gewebsveränderungen. I. Mitteilung: Die experimentelle Erzeugung von silikotischen Schwielen durch Quarz und kolloidale Kieselsäure. Arch. f. Gewerbepath. Berlin 6, 1-17 (1935)
68. Stacy, B.D. und King, E.J.: Die Anwendung chemischer Methoden zur Bestimmung von Kieselsäure und Kollagen beim Studium der experimentellen Silikose. Die Staublungenerkr. 3, 197-207 (1958)
69. Strecker, F.J.: Silikogene Wirkung von amorpher Kieselsäure. Die Staublungenerkr. 3, 220-226 (1958)
70. Strecker, F.J.: Zur Faserbildung im silikotischen Granulom. Die Staublungenerkr. 3, 226-230 (1958)

71. Takacsy, L., Bordas, S. and Timar, M.: Connective tissue changes caused in guinea pigs by Quartz, quartz-containing dead rock, brown coal and talc, as examined by the methode of Miller and Sayers. Acta morph. Acad. Sci. hung. 8, 425-434 (1959)
72. Thomas, K. und Stegemann, H.: Isolierung und Eigenschaften der Fremdstäube aus Lungen. Die Staublungen-erkr. 2, 172-180 (1954)
73. Turrian, H., Grandjean, E. et Nicod, J. L.: Une nouvelle methode biologique per mettant el'apprecier la fibrogenité d'une poussiere silicogène. Helvet. phys. et pharmacol. acta 12, 316-326 (1954)
74. Zaidi, S. H., King, E. J., Harrison, C. V., and Nagelschmidt, G.: Fibrogenic Activity of Different Forms of Silicia. A.M.A. Archives of Industr. Health 13, 112 (1956)

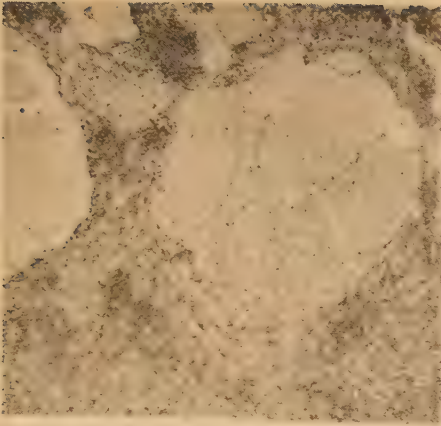


Abb.1. Quarzgranulom. 5 Tage nach Applikation des Staubes. Konzentrische Anordnung der Fibroblasten in der Mittelzone. Geringe Exsudatzelleninfiltration im Zentrum. Färb. H.E. Vergr. 125 x



Abb.2. Quarzgranulom. 3 Monate. Konzentrische Faseranordnung und beginnende Hyalinisierung im Zentrum. Peripherer Granulationssaum van Gieson 30 x

Abb. 3. Aerosilgranulom. 4 Tage. Dichte Leukozyteninfiltration im Zentrum. 55 x

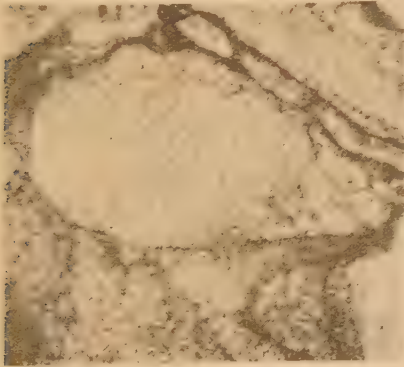
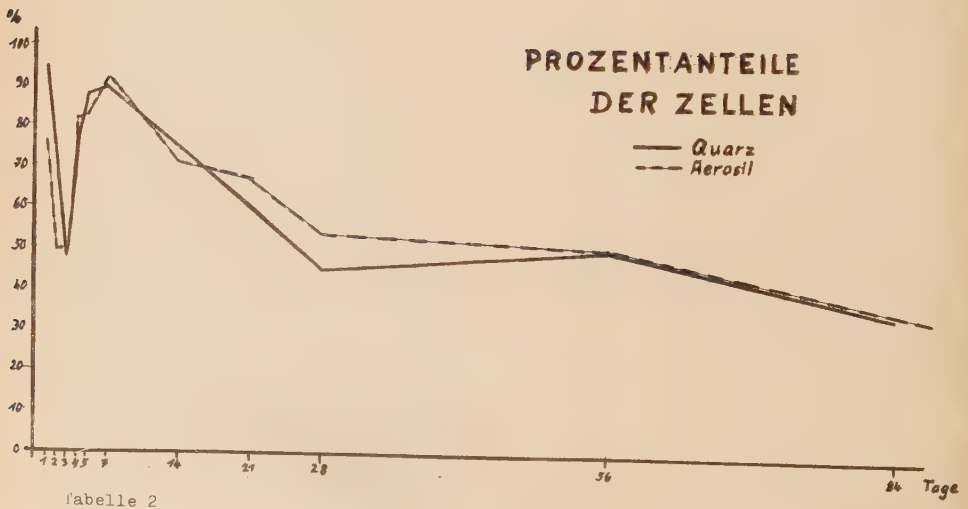


Abb. 4. Aerosilgranulom. 2 Monate. Zellreiches Granulom mit diffuser Faserdurchflechtung. van Gieson 140 x





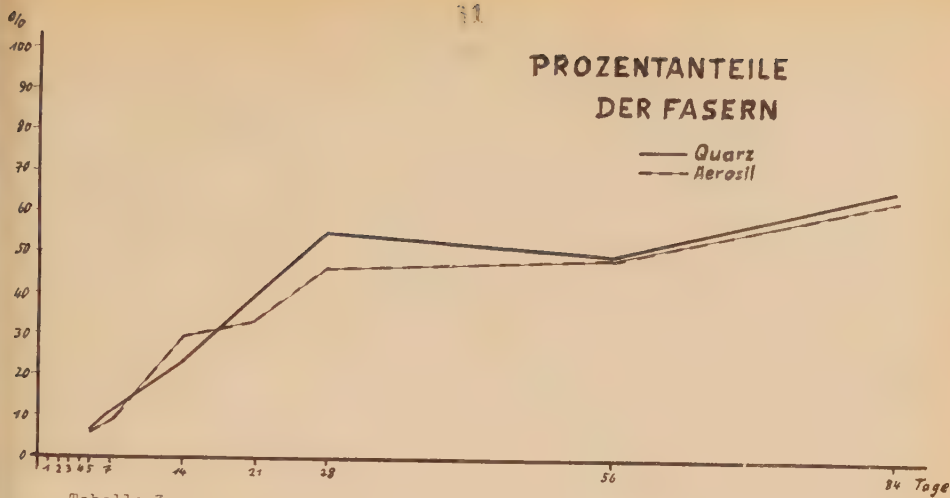


Tabelle 3

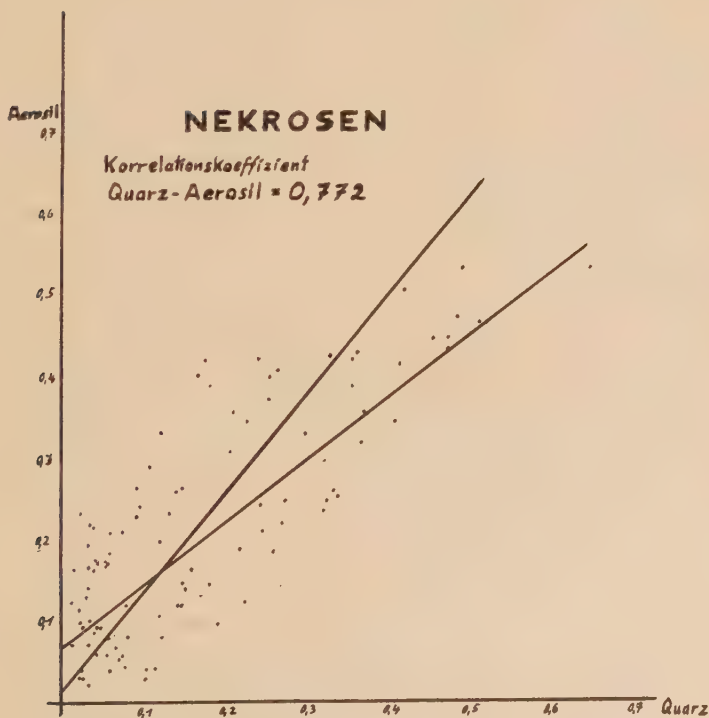
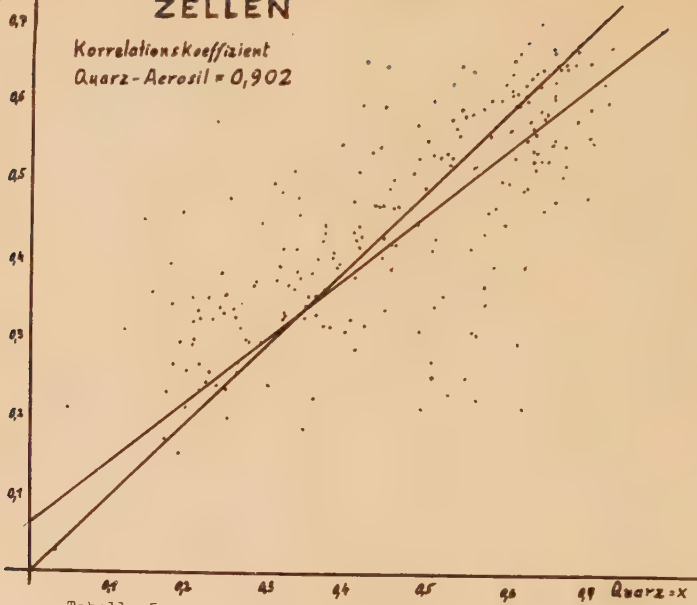


Tabelle 4

Aerosil
Y**ZELLEN**

Korrelationskoeffizient
 Quarz - Aerosil = 0,902

Aerosil
Y**FASERN**

Korrelationskoeffizient
 Quarz - Aerosil = 0,952

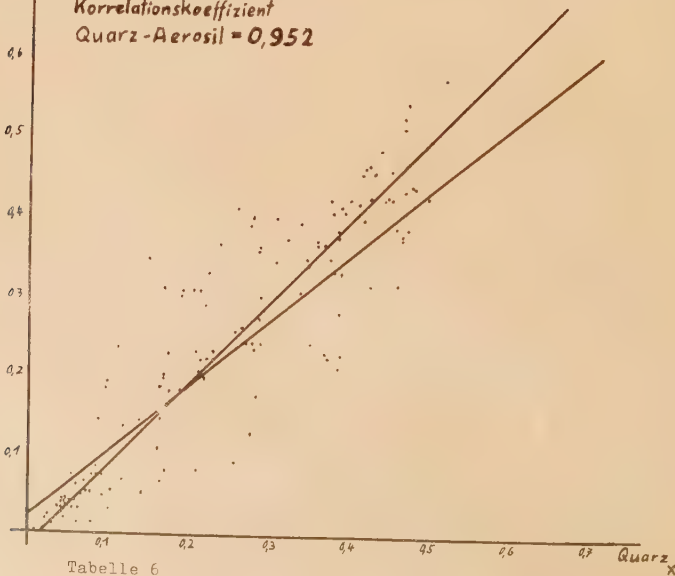


Tabelle 7

Zellen			Quarz Fasern			Nekrosen			
	$\bar{x}$	$S\bar{x}$	%	$\bar{x}$	$S\bar{x}$	%	$\bar{x}$	$S\bar{x}$	%
1. Tag	0,655	0,007	93,4				0,043	0,005	6,6
2. "	0,516	0,038	71,3				0,209	0,026	28,7
3. "	0,348	0,037	47,1				0,369	0,029	52,9
4. "	0,527	0,020	75,7				0,170	0,025	24,3
5. "	0,625	0,008	87,7	0,044	0,007	6,2	0,044	0,002	6,1
7. "	0,627	0,014	89,2	0,077	0,013				
14. "	0,484	0,015	74,8	0,163	0,017	23,2			
21. "	0,431	0,014	60,5	0,281	0,017	39,5			
28. "	0,314	0,017	45	0,384	0,016	55			
56. "	0,281	0,019	50	0,287	0,019	50			
34. "	0,225	0,015	34,3	0,431	0,015	65,7			

	Zellen			<u>Aerosil</u> Fasern			Nekrosen		
	$\bar{x}$	$S\bar{x}$	%	$\bar{x}$	$S\bar{x}$	%	$\bar{x}$	$S\bar{x}$	%
1. Tag	0,541	0,016	76				0,171	0,001	24
2. "	0,348	0,021	49,6				0,354	0,026	50,4
3. "	0,349	0,037	49,9				0,353	0,026	50,1
4. "	0,572	0,017	81,8				0,127	0,015	18,2
5. "	0,570	0,012	82,2	0,039	0,017	5,7	0,084	0,005	12,1
7. "	0,624	0,005	91,7	0,057	0,004	8,3			
14. "	0,442	0,032	70,7	0,183	0,012	29,3			
21. "	0,465	0,012	66,8	0,231	0,014	33,2			
28. "	0,386	0,011	53,8	0,331	0,013	46,2			
56. "	0,361	0,093	50,8	0,355	0,011	49,2			
34. "	0,253	0,010	35,8	0,453	0,010	64,2			

Tabelle 8

Granulomgewichte

Quarz

Tage	3.	4.	5.	6.	7.	14.	21.
	1,74	0,81	1,26	1,19	0,94	0,56	0,49
	-	-	-	-	1,40	0,76	0,76
	-	-	-	-	1,19	1,77	0,72

Tage	28.	56.	84.
	0,39	0,21	0,18
	0,39	0,38	-
	0,69	-	-

Aerosil

Tage	3.	4.	5.	6.	7.	14.	21.
	0,38	1,24	1,96	2,16	2,89	2,44	2,70
	-	-	-	-	1,39	0,57	0,39
	-	-	-	-	1,79	1,42	1,20

Tage	28.	56.	84.
	0,35	-	0,29
	0,31	0,23	-
	0,49	-	-

L e b e n s l a u f

Am 28. Februar wurde ich als zweiter Sohn des Augenarztes Dr.med. Friedrich Werkle und seiner Ehefrau Ise geb. Becker, in Castrop-Rauxel geboren. Unsere Familie wohnte in Mülheim/Ruhr, wo mein Vater seine Facharztpraxis hatte. Dort wurde ich auch 1942 eingeschult. Wegen der schweren Bombenangriffe auf das Ruhrgebiet verbrachte ich das Jahr 1943 im Schwarzwald, war jedoch während des letzten Kriegsjahres und bei Kriegsende wieder in Mülheim/Ruhr. Nach Beendigung der Volksschulausbildung wurde ich Ostern 1946 in die Sexta des alt- und neusprachlichen Gymnasiums in Mülheim/Ruhr aufgenommen. Im März 1955 bestand ich auch an dieser Schule das Abitur.

Obwohl mein Vater schon 1951 verstorben war, entschloß ich mich, Medizin zu studieren. Ich begann mein Studium im Sommersemester 1955 in München, wo ich auch noch ein Wintersemester blieb. Nach einem Semester in Graz in Österreich und zwei weiteren in Freiburg/Br. legte ich dort im Juli 1957 das medizinische Vorexamen ab. Dort blieb ich noch ein Semester und war dann für den Rest meines Studiums in München immatrikuliert. Nach dem Staatsexamen im Dezember 1960 habe ich im April dieses Jahres an einem städtischen Krankenhaus in München eine Stelle als Medizinalassistent angenommen.

